Vergleichende Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Petunien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Rudolf Hesse
aus Berlin-Frohnau

Tag der Promotion: 1. Oktober 1938
Tag der mündl. Prüfung: 1. Juni 1938

Berlin
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Koester Ufer 17
1938

N 54

Vergleichende Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Petunien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Rudolf Hesse
aus Berlin-Frohnau

Tag der Promotion: 1. Oktober 1938
Tag der mündl. Prüfung: 1. Juni 1938

Berlin
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Koester Ufer 17
1938

Referenten: Professor Dr. F. v. Wettstein
Professor Dr. K. Noack

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus Bd. LXXV, Heft 1
der „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“
Gebrüder Borntraeger, Berlin

Druck von E. Buchbinder (H. Duske) G. m. b. H. in Neuruppin

Printed in Germany

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem, Abteilung F. v. Wettstein)

Vergleichende Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Petunien

Von

Rudolf Hesse

Mit 6 Textfiguren

(Eingegangen am 24. Juni 1938)

Inhalt

A. Einleitung 1
1. Problemstellung 1
2. Material 2
3. Methode 3
B. Gestalt und Bau 4
1. Sproß 4
2. Laubblatt 7
3. Blüte 8
4. Einzelzelle 9
5. Chloroplasten 13
C. Physiologische Untersuchungen 15
1. Entwicklungsgeschwindigkeit 15
2. Stoffliche Leistung 16
3. Wassergehalt und osmotischer Wert 18
D. Schluß 19
1. Besprechung der Ergebnisse 19
2. Zusammenfassung 21

A. Einleitung

1. Problemstellung

In einigen Gruppen von Pflanzen sind die Chromosomenzahlen in der Weise verschieden, daß die Zahlen einzelner Arten Vielfache von denen anderer Arten darstellen. Diese Feststellung führte zur Aufstellung polyploider Reihen in manchen Gattungen (z. B. *Rosa*, *Chrysanthemum*) und damit zu der Erkenntnis, daß in solchen Gruppen die Polyploidie ein wichtiger Weg war, der zur Bildung neuer Arten führte. Aus den Paarungseigentümlichkeiten der Chromosomen in der Meiose hat man in vielen Fällen zu entscheiden versucht, ob es sich um Autopolyploide oder um Allopolyploide handelt, d. h. ob der Chromosomenbestand aus homologen oder aus nicht-homologen Sätzen zusammengesetzt ist. Viel weitere Schlüsse dürfen aber aus dem Vergleich in der Natur vorkommender Polyploider nicht gezogen werden. Beim Vergleich anatomischer oder physio-

logischer Eigenschaften einer polyploiden Wildart mit der vermutlichen Stammart kann es allzu leicht passieren, daß die Polyploidie auch für solche Eigenschaftsveränderungen verantwortlich gemacht wird, die in Wirklichkeit auf Genunterschieden oder auf plasmatischen Unterschieden beruhen. Klarheit darüber, welcher Art die Veränderungen sind, die durch die Polyploidie an sich hervorgerufen werden, kann daher nur an experimentell hergestellten Polyploiden von bekannter genetischer Zusammensetzung gewonnen werden. Als Ausgangspunkt für derartige Untersuchungen sind besonders solche Pflanzen geeignet, die aus einer haploiden Zelle entstanden sind, mag es sich um haploide Thallophyten handeln oder um diploide Angiospermen, bei denen haploide Zellen sich apomiktisch entwickelt haben oder deren Nachkommenschaft durch Merogonie oder Pseudogamie entstanden ist (vgl. CORRENS 1937, S. 84—89). Auf diese Weise lassen sich homozygote Polyploide erhalten, bei denen die Polyploidie-Wirkung nicht durch Genwirkungen oder Plasma-Einflüsse überlagert wird. Ist man an einigen Stellen auch schon weiter vorgedrungen, so in der Untersuchung der Wechselwirkung von Polyploidie mit Plasma-Unterschieden (v. WETTSTEIN und Schüler), so bedürfen doch die Grundlagen unserer Kenntnisse über die Polyploidie-Wirkung eines weiteren Ausbaus, sowohl durch Vertiefung an vielen Stellen, als auch durch Ausdehnung der Untersuchungen auf neue Objekte. Einerseits sind es entwicklungsphysiologische Fragen, wie die der Zellgröße, der Organgröße und -gestalt, die noch weiterer Durcharbeitung bedürfen, andererseits die der Entwicklungsgeschwindigkeit, des stofflichen Ertrages und des Wasserhaushaltes. Durch die neueren Untersuchungen über Plastiden-Vererbung hat auch die Frage der Beeinflussung der Chloroplasten durch das Genom wieder erhöhtes Interesse gewonnen; gerade hier sind klare Ergebnisse wegen der Schwierigkeit der Untersuchung nicht leicht zu erhalten, und weitere Untersuchungen an neuen Objekten sind deshalb erwünscht. Können diese genetischen und entwicklungsphysiologischen Probleme ihrer Lösung näher gebracht werden, so werden damit zugleich wichtige Tatsachen beigebracht werden, auf denen deszendenztheoretische Betrachtungen und verbreitungsökologische Hypothesen aufbauen können. Nicht zuletzt ist es aber für die praktische Pflanzenzüchtung von hohem Wert, durch die an verschiedenen Pflanzenarten gewonnenen Erkenntnisse zu erfahren, was sie von der Polyploidie für die Erreichung ihrer züchterischen Ziele erwarten kann. Nur eine Ausdehnung der Untersuchungen auf eine größere Zahl von Pflanzenarten und -genotypen kann das dafür nötige Vergleichsmaterial herbeischaffen.

2. Material

Ausgangsmaterial für die vorliegende Untersuchung war eine als *Petunia nyctaginiflora* bezeichnete Gartensippe von *Petunia*. Sie stimmte in ihren Eigenschaften mit der Beschreibung, die FERGUSON und OTTLEY (1932) für *P. axillaris* (Lam.) B. S. P. (= *P. nyctaginiflora* Juss.) geben, weitgehend überein. Von der Stammart ist sie hauptsächlich durch ihren strafferen Wuchs unterschieden. Während die Seitenachsen der Stammart häufig wagerecht wachsen und bei zunehmender Länge niederliegend werden, wachsen sie bei unserer Sippe aufrecht,

in spitzem Winkel zur Hauptachse. Die Samen wurden im Jahre 1932 zum ersten Male angebaut. In fünf Selbstungsgenerationen erwies sich die Sippe als konstant. In der fünften Selbstungsgeneration (1935) wurden Bestäubungsversuche mit *Salpiglossis*-Pollen angestellt, in der Absicht, auf diesem Wege haploide Pflanzen zu erhalten (s. a. Jørgensen 1928). 44 aus diesen Bestäubungen hervorgegangene Samen ergaben eine tetraploide und einige diploide Pflanzen. Rediger (1938) hat wahrscheinlich gemacht, daß die diploiden und tetraploiden Embryonen durch Pseudogamie aus der haploiden Eizelle entstehen. Dabei läuft wohl in der Eizelle eine Kernteilung ab, ohne daß zugleich Wandbildung eintritt. Geschieht das einmal, so entstehen diploide Embryonen, wiederholt sich der Vorgang, so werden die Embryonen tetraploid. Die so entstandenen Pflanzen sind also, da sie aus einer haploiden Zelle entstanden sind, sicher homozygot. Für die vergleichende Untersuchung der diploiden und tetraploiden Form ist es von großer Wichtigkeit, daß durch die vorhergegangene Inzucht weitgehende Homozygotie der Ausgangspflanze gewährleistet ist, so daß mit großer Sicherheit angenommen werden kann, daß dem Diplonten und dem Tetraplonten das gleiche Genom zugrunde liegt.

Die Tetraplonten geben bei Selbstung sehr guten Samenansatz, eine Verminderung der Fertilität durch die Genomverdoppelung ist nicht feststellbar. In der Nachkommenschaft treten außer Pflanzen mit der normalen Chromosomenzahl ($4n = 28$) solche mit mehr oder mit weniger Chromosomen auf und zwar in der Hauptsache 27- und 29-chromosomige Pflanzen. Dementsprechend erhält man aus der Kreuzung $4n \times 2n$ (die umgekehrte Kreuzung ergibt Samen, die nicht keimen) Pflanzen mit $3n = 21$ Chromosomen und Hypo- und Hypertriploide. Triploide Pflanzen wurden durch Bestäubung der 4n-Pflanze mit Pollen aus der 6. Selbstungsgeneration des Diplonten hergestellt. Die Chromosomenzahlen bestimmte in allen Fällen Herr Dr. R. Griesinger. Nachdem die Vorarbeiten soweit vorgetrieben waren, wurden mir die Pflanzen von Herrn Prof. v. Wettstein zur Untersuchung übergeben.

3. Methode

Alle Pflanzen wurden im Gewächshaus gezogen. Für einen Teil der Untersuchungen wurden Stecklinge von Pflanzen mit vorher geprüfter Chromosomenzahl verwendet. Nimmt man die Stecklinge von blühenden Pflanzen, wie das in allen Fällen getan wurde, so kommen sie bald zur Blüte und entwickeln sich vegetativ nicht sehr stark. Außerdem haben Stecklinge den Nachteil, daß sie sich sehr verschieden schnell bewurzeln und dadurch im Wuchs ungleichmäßig werden. Deshalb wurde meistens die Untersuchung von Sämlingen vorgezogen, einmal, weil sie gleichförmiger, zum andern, weil sie leichter in großer Zahl zu erhalten sind. Zur Bestimmung der Entwicklungsgeschwindigkeit und des stofflichen Ertrages kommen überhaupt nur Sämlinge in Betracht. Die Chromosomenzahlen dieser Sämlinge wurden nicht geprüft. Bei den Diplonten spielte das keine Rolle, bei den Tetraplonten kamen auf diese Weise auch hypo- und hypertetraploide Pflanzen zur Untersuchung (über den dadurch bedingten Fehler, besonders über die Streuung bei Merkmalen dieser Tetraplonten s. S. 21). Für die Tetraplonten-Aussaaten wurden Samen der tetraploiden Ursprungspflanze verwendet, für die Diplonten-Aussaaten solche eines ihrer diploiden Geschwister. In allen Fällen wurden lebende Zellen und Gewebe untersucht (außer bei der Porenzahl der Pollen-

körner), um Veränderungen durch Fixierungsmittel auszuschließen. Methodische Einzelheiten finden sich an den entsprechenden Textstellen. Mittelwerte, mittlere Fehler und Streuung wurden nach JOHANNSENS (1926) Formeln berechnet.

B. Gestalt und Bau

1. Sproß

Die diploiden Petunien besitzen eine weiche, krautige Hauptachse, die bald Seitenachsen bildet, so daß ältere Pflanzen ein buschiges Aussehen erhalten. Die Seitenachsen stehen an ihrem Ausgangspunkt unter spitzem Winkel zur Hauptachse und wachsen später nahezu parallel zu ihr. Die Blätter, in der Knospe fast gegenständig, werden im Verlauf des Wachstums voneinander entfernt, so daß sich eine wechselständige Beblätterung der Sprosse ergibt. Die Blätter sind spitzoval, die unteren groß und langgestielt; nach oben hin werden die Blattflächen zunehmend kleiner, die Stiele immer kürzer, so daß die oberen Blätter fast sitzend erscheinen. Der Blattstiel geht allmählich in die Spreite über. Stengel, Blätter und Kronröhre der Blüte sind mit mehrzelligen Drüsenhaaren dicht behaart und fühlen sich daher klebrig an.

Bei den tetraploiden Pflanzen ist der Stengel dicker als bei den diploiden, die Form seines Querschnitts ähnelt der bei den Diplonten. Er ist nicht kantig, wie es bei anderen Polyploiden beobachtet wurde (z. B. WINKLER 1916). Auffällige Unterschiede in der Dichte der Behaarung oder Größe der Einzelhaare lassen sich nicht feststellen. Genaue Messungen über die Größe der einzelnen Haare oder Haarzellen sind nicht möglich, da alle Alters- und Größenklassen von Haaren nebeneinander vorhanden sind. Sehr hervorstechend und in manchen Entwicklungsstadien entscheidend für den Gesamteindruck sind die Verschiedenheiten in der Verzweigung. Sie beginnt bei den Diplonten wesentlich früher als bei den Tetraplonten, so daß jene schon zahlreiche Nebenachsen besitzen, während diese noch unverzweigt sind (Tab. 1, Fig. 1).

Tabelle 1

Serie 4. 48 Tage nach der Aussaat (13. 8.—30. 9. 1937). Häufigkeit der Pflanzen mit verschiedener Zahl von Seitenachsen über 1 cm Länge. In % der Gesamtzahl

Zahl der Seitenachsen	0	1	2	3	4	5	Anzahl der Pflanzen
2n	13,3	9,7	21,2	36,3	12,4	7,1	113
4n	90,3	8,1	1,6				123

Die Verzweigung kann bei den Diplonten schon so tief am Sproß beginnen, daß „Zwillingssprosse" entstehen, die sich so gleichmäßig entwickeln, daß es nicht möglich ist zu entscheiden, welches die Haupt- und welches die Nebenachse ist, besonders auch deshalb nicht, weil beide fast gleichzeitig zur Blüte kommen. Bei diploiden Pflanzen wurden solche Bildungen wiederholt beobachtet, bei tetraploiden nie. Bei ihnen beginnt die Verzweigung erst in größerer Höhe. Die

Achselknospen der tief inserierten Blätter wachsen zwar meist aus, es kommt aber nur zur Bildung eines kümmerlichen Blattpaares, das seine Entwicklung bald einstellt. (Um solche Kümmerbildungen außer Betracht zu lassen, wurden bei der Messung nur Seitenachsen über 1 cm Länge berücksichtigt.) Die später einsetzende Verzweigung ist bei den Tetraplonten so stark, daß es nachher zu

Fig. 1. Gleichalte Pflanzen, links 2n, rechts 4n.

einer deutlichen Annäherung zwischen Diplonten und Tetraplonten kommt. Hatten bei 48 Tage alten Pflanzen die Diplonten im Mittel 2,5 Seitenachsen, die Tetraplonten 0,1 (d. h. jede 10. Pflanze besaß 1 Seitenachse), so besaßen von 85 Tage alten Pflanzen (10. 7.—2./3. 10. 1937) die Diplonten im Mittel 9,1, die Tetraplonten 6,5 Seitenachsen. Dementsprechend sind bei den jungen Pflanzen die Gesamt-Sproßlängen (Höhe der Hauptachse + Länge der Seitenachsen)

stark verschieden, obwohl die Hauptachsen sich in ihrer Länge kaum unterscheiden. Die geringen Höhenunterschiede bleiben bei den älteren Pflanzen erhalten, die Gesamt-Sproßlängen nähern sich einander (Tab. 2).

Tabelle 2

	Hauptachse i. Mittel (H in cm)	Gesamt-Sproßlänge i. Mittel (L in cm)	Zahl der Pflanzen
2n (48 Tage)	11,5	25,7 $\frac{2,1}{1}$	113
4n (48 Tage)	12,0	12,2	123
2n (85 Tage)	57,1	141,0 $\frac{1,2}{1}$	35
4n (85 Tage)	59,2	114,5	63

Die Höhenunterschiede der Hauptachsen, die bei gleichalten Pflanzen nur angedeutet sind, so, daß die Tetraplonten etwas höher zu sein scheinen, werden deutlicher, wenn man Pflanzen vergleicht, die sich im gleichen Entwicklungsstadium befinden, also nicht zeitlich, aber physiologisch gleich alt sind. An Pflanzen, bei denen sich eben die erste Blüte entfaltete, wurde die Höhe der Hauptachse von den Kotyledonen bis zum Sproßgipfel gemessen (Tab. 3).

Tabelle 3

	Höhe; M $\pm$ 3m	Anzahl der Pflanzen
Serie 2, ausgesät 28. 6., Blüte 19. 8.—2. 10., Höhe in cm		
2n	24,4 $\pm$ 1,6	23
4n	30,8 $\pm$ 2,0	24
Serie 3, ausgesät 10. 7., Blüte 30. 8.—28. 9.		
2n	27,2 $\pm$ 1,7	41
4n	31,4 $\pm$ 1,4	61

Die Höhenunterschiede sind zwar in beiden Fällen nicht groß, immerhin doch so, daß sie fehlerstatistisch gesichert sind. In bezug auf die Höhe dürfte man bei den tetraploiden Petunien kaum von gigas-Pflanzen sprechen.

2. Laubblatt

Die Gestaltsveränderungen, die die Laubblätter dikotyler Blütenpflanzen durch die Genomerhöhung erfahren, bewegen sich bei allen bisher untersuchten Pflanzen in der gleichen Richtung; nur der Grad der Veränderung ist verschieden. Die Blattdicke und die relative Breite der Blätter nehmen beim Tetraplonten zu, die Blattspreite ist mehr oder weniger emporgewölbt. Der Breitenunterschied ist bereits bei den Keimblättern vorhanden (Tab. 4, Fig. 2), an den Folgeblättern noch deutlicher (Fig. 3).

(Von je 125 Keimlingen wurden die Keimblätter mit einem Zeichenapparat nach EDINGER gezeichnet, an den Zeichnungen die Länge (L) und die Breite (B) ausgemessen, die Fläche (F) mit einem OTT-Kompensationsplanimeter gemessen.)

Tabelle 4

Pflanze	$\frac{L}{B}$ ($M \pm 3m$)	F (cm^2 der Zeichnung)		Zahl der Keimblätter
2n	$1{,}409 \pm 0{,}022$	$9{,}0 \pm 0{,}4$	1	250
4n	$1{,}213 \pm 0{,}015$	$11{,}3 \pm 0{,}6$	1,25	250

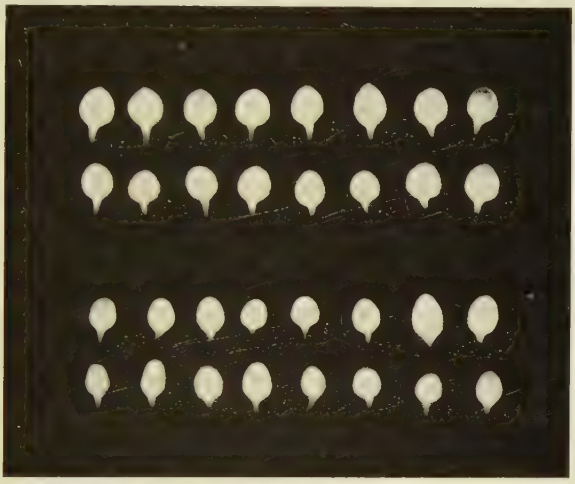

Fig. 2. Keimblätter, Selbstdruck. Obere Reihen vom Tetraplonten, untere vom Diplonten. Je 2 benachbarte Blätter vom gleichen Keimling.

Fig. 3. Gipfel von Seitenachsen, links vom Diplonten, rechts vom Tetraplonten.

Die Aufwölbung der Blattspreite ist nicht so, daß das ganze Blatt emporgewölbt ist, sondern einzelne Bezirke zwischen den Blattadern sind stärker emporgewölbt als andere, so daß die Blätter der Tetraplonten unregelmäßig

gewellt erscheinen. Nicht selten kommt es auch vor, daß Blätter schüsselartig durchgebogen sind. Alle diese Unregelmäßigkeiten sind beim Tetraplonten nur schwach ausgeprägt; die Harmonie der Zellen und Gewebe ist durch die Genomvermehrung kaum gestört. Die Wellungen der Blätter sind weit weniger deutlich als z. B. bei *Oenothera gigas* (DE VRIES 1913, Taf. 3 und 4). Auszackungen des Blattrandes oder sonstige Unregelmäßigkeiten im Blattumriß kommen nicht vor. Das liegt nicht einfach daran, daß bei einer so einfachen Blattgestalt, wie die Petunien sie haben, Änderungen nicht möglich wären, sondern nur bei komplizierter gebauten Blättern, während deren Entwicklung mehr Störungen eintreten könnten (z. B. *Solanum lycopersicum*). Denn das im Diplonten ebenfalls sehr einfach gebaute Blatt von *Solanum nigrum* zeigt im Tetraplonten häufig Unregelmäßigkeiten in der Gestalt (WINKLER 1916). Die geringe Zahl der Störungen ist also als eine Eigentümlichkeit dieser Petuniensippe anzusehen. Sie zeigt sich an mehreren Stellen in der Entwicklung.

Die Schichtenzahl der Blattgewebe scheint beim Tetraplonten nicht verändert zu sein; das Palisadengewebe, auf das besonders geachtet wurde, war immer zweischichtig, wie beim Diplonten. Die Dickenunterschiede zwischen den Blättern des Diplonten und Tetraplonten sind wohl nur durch die erhöhte Zellgröße des Tetraplonten bedingt. Unterschiede in Färbung und Behaarung der Blätter, wie sie bei *Solanum lycopersicum* deutlich sind (WINKLER), wurden nicht beobachtet.

3. Blüte

Die Petunien sind in ihren Blüten streng fünfzählig. Beim Diplonten und beim Tetraplonten kommen vereinzelt Kelche mit überzähligen Kelchblättern vor, die Zahl der Kronblätter und der Antheren wurde nie anders als fünf gefunden. Bei Tomaten sind die Verhältnisse beim Diplonten und beim Tetraplonten sehr schwankend, bei *Solanum nigrum* fand WINKLER die diploide Ausgangsform in der Zahl der Blütenglieder sehr konstant, die gigas-Form dagegen stark gestört. Ähnliches fand UFER (1927) bei *Cleome*. Auch hier zeigt sich wieder, wie wenig man Befunde an einzelnen polyploiden Sippen verallgemeinern darf. Entsprechend dem Verhalten der Laubblätter sind Kelchblätter und Blumenkrone bei der 4n-Pflanze dicker. Größenunterschiede zu erfassen ist bei den Petunien-

Tabelle 5

	Blütenlänge in cm M ± 3m		Griffellänge in cm M ± 3m	
Serie 2				
2n	5,6 ± 0,1	16	3,1 ± 0,1	23
4n	5,8 ± 0,1	23	3,3 ± 0,1	25
Serie 3				
2n	5,5 ± 0,1	39	3,0 ± 0,1	47
4n	5,8 ± 0,1	53	3,2 ± 0,1	60

blüten schwer. Es wurden die Längen eben sich öffnender Blüten gemessen und zwar so, daß die Blüten aus dem Kelch herausgezogen wurden und ihre Länge bestimmt wurde.

Dabei rissen die Griffel an ihrer Ansatzstelle vom Fruchtknoten ab; ihre Länge wurde ebenfalls gemessen (Tab. 5). Es wurde jeweils nur die erste Blüte einer Pflanze zur Messung verwendet.

Eine geringe Längenzunahme ist bei den Blüten des Tetraplonten festzustellen, ebenso bei den Griffeln. Breitenunterschiede der Blüten wurden nicht gemessen. Hier wäre eher ein Unterschied zu erwarten, dem Verhalten der Laubblätter nach zu urteilen. Darauf deuten auch die aufgeschlitzten Kronröhren der Fig. 4.

Deutlich verändert wird durch die Tetraploidie die Färbung des Blütenschlundes. *Petunia axillaris* hat im Schlund der fast rein weißen Blüte ein charakteristisches Zeichnungsmuster von violettschwarzer Anthocyan- und gelber Chromoplastenfärbung. Beim Tetraplonten nimmt sowohl die Größe der einzelnen Farbflecke, wie die des gesamten gefärbten Bezirkes zu; zugleich tritt eine Farbvertiefung ein, die wohl auf die größere Dicke der gefärbten Schicht zurückzuführen ist (Fig. 4). Das Merkmal der Schlundfärbung ist stark von Außenbedingungen abhängig, die Farbintensität wechselt bei Diplonten und Tetraplonten beträchtlich. Bei Pflanzen, die unter gleichen Bedingungen aufgewachsen sind, läßt sich aber eine Unterscheidung der beiden Valenzstufen nach diesem Merkmal mit guter Sicherheit durchführen.

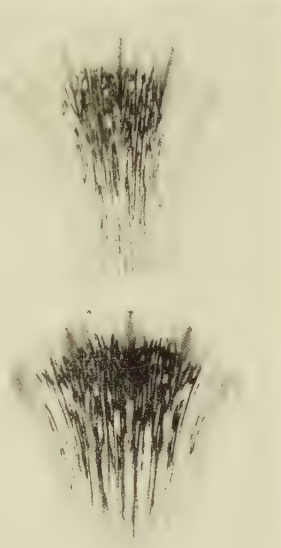

Fig. 4. Zeichnungsmuster des Schlundes einer diploiden (oben) und tetraploiden (unten) Blüte.

4. Einzelzelle

Grundlegend für alle vergleichenden Messungen an Polyploiden sind die Veränderungen, die die Einzelzelle durch die Chromosomen- oder Genomvermehrungen erfährt; denn sie stellen den Vergleichsmaßstab für die Wertung der Gesamtunterschiede zwischen den verschiedenen Rassen dar. Zellgrößen wurden am Diplonten, Triplonten und Tetraplonten gemessen. Die Zellen sind sowohl beim Triplonten als auch beim Tetraplonten in allen Geweben im Vergleich mit dem Diplonten stark vergrößert. Mit leidlicher Genauigkeit läßt sich das Volumen der Epidermiszellen des Stengels messen, indem man einmal an der abgezogenen Epidermis die Zellfläche (F), das andere Mal auf dem Querschnitt die Zelldicke (D) mißt und aus dem Produkt beider Mittelwerte das mittlere Zellvolumen berechnet. (Zur Messung wurden einander entsprechende Zellen gleich

alter Stecklinge von 14, 21 und 28-chromosomigen Pflanzen verwendet, je 50 Zellen von 5 Pflanzen. Gezeichnet mit Abbeschem Zeichenapparat, Obj. D, Ok. 1 von Zeiss; die Zeichnungen planimetriert) (Tab. 6).

Tabelle 6

	2n	3n	4n
Fläche d. Epid.-Zellen. cm² der Zeichnung.			
M ± 3m	3,63 ± 0,23	4,74 ± 0,29	5,71 ± 0,34
Streuung F	± 1,20	± 1,54	± 1,78
Dicke. cm der Zeichnung	0,76 ± 0,02	0,83 ± 0,03	0,91 ± 0,03
Streuung D	± 0,13	± 0,16	± 0,18
Zahl d. Zellen	250	250	250

Die Einzelmaße sind, fehlerstatistisch gesichert, stark verschieden. Aus den Mittelwerten ergibt sich für die Volumina $(F \times D)_{2n} : (F \times D)_{3n} : (F \times D)_{4n} = 1 : 1{,}42 : 1{,}88$. Der Triplont steht fast genau in der Mitte zwischen Diplonten und Tetraplonten. Das Vergrößerungsverhältnis 2n : 3n ist 1,42, dasjenige 3n : 4n 1,32. Daraus ergibt sich ein mittlerer Vergrößerungsfaktor 1,37. v. Wettstein (1924, 1928) nimmt für die Zellvergrößerung bei Polyploiden ein Ausgangsvolumen V_1 für den Haplonten und einen sippenkonstanten Vergrößerungsfaktor $\varkappa$ für jedes neu hinzutretende Genom an. Die Formel für eine Zelle beliebigen Valenzgrades lautet danach

$$V_n = V_1 \times \varkappa^{n-1}$$

$\varkappa$ ist in unserem Fall 1,37. Verglichen mit der Größe dieses Faktors bei anderen Objekten (verschiedene Laubmoosarten zwischen 1,45 und 3,94, v. Wettstein 1928; *Oenothera* zwischen 1,40 und 1,90 je nach Zellart, Gates 1909) ist der Wert bei den Petunien nicht hoch. Über die Größenverhältnisse anderer Zellarten ist damit natürlich noch nichts ausgesagt.

Aus den in Tabelle 6 angegebenen Werten läßt sich auch entnehmen, wie stark die Vergrößerung der Zellen in den verschiedenen Richtungen des Raumes erfolgt. Ist der Vergrößerungsfaktor 2n : 4n 1,88, so muß er bei gleichmäßiger Vergrößerung in allen drei Dimensionen für die Zelldicke $\sqrt[3]{1{,}88} = 1{,}23$, für die Zellfläche $1{,}23^2 = 1{,}55$ sein. In Wirklichkeit ist $D_{4n} : D_{2n} = 1{,}2$, $F_{4n} : F_{2n} = 1{,}55$; die Vergrößerung der Epidermis erfolgt also in Dicke und Fläche gleichmäßig. Ob andere Gewebe sich ebenso verhalten, ist damit nicht bewiesen. Gates (1909) konnte bei *Oenothera gigas* zeigen, daß die Vergrößerung in den drei Dimensionen bei verschiedenen Geweben gar nicht einheitlich ist.

Ein für vergleichende Volummessungen günstiges Material stellen die Pollenkörner dar, die sich in gequollenem Zustand der Kugelgestalt nähern. Der Pollen des Tetraplonten ist trotz der Unregelmäßigkeiten, die während der Reduktionsteilung vorkommen, recht einheitlich und daher mit dem des Diplonten gut vergleichbar (Tab. 7). (Die Pollenkörner wurden in Wasser auf den Objekt-

träger gebracht; sie platzen nur langsam, so daß bei schnellem Arbeiten sich eine große Zahl ungeplatzter Körner zeichnen läßt. Obj. E, Meßok. 7 von Zeiss, Zeichenapp.; die Zeichnungen wurden planimetriert, die Volumina als Kugeln von flächengleichem Querschnitt berechnet.)

Tabelle 7

Pollenvolumina

	M ± 3m	Streuung	Anzahl
n	30000 μ^3 ± 750	± 5600	510
2n	54000 μ^3 ± 1900	± 15000	536

Das Volumenverhältnis der beiden Pollensorten ist n : 2n = 1 : 1,8, $\varkappa_{\text{Pollen}}$ ist also 1,8. Die Übereinstimmung mit $\varkappa^3_{\text{Epidermis}}$ ist auffällig. (Der Vergrößerungsfaktor (Epidermis$_{2n}$: Epidermis$_{4n}$) ist $\varkappa^2$, wie sich aus v. Wettsteins Formeln ergibt: Das Zellvolumen einer diploiden Zelle ist $V_{2n} = V_1 \times \varkappa^1$, das einer tetraploiden Zelle $V_{4n} = V_1 \times \varkappa^3$. Daraus folgt der Quotient $V_{2n} : V_{4n} = 1 : \varkappa^2$.) Sie legt folgende Erklärungsmöglichkeit nahe: Der Pollen hängt entwicklungsphysiologisch stark von der Elternpflanze ab und steht unter dem Einfluß von deren Genom. Der Pollen des Diplonten entwickelt sich unter der Wirkung des zweifachen Genoms, der Pollen des Tetraplonten unter der des vierfachen Genoms. Die Unterschiede zwischen beiden Pollensorten sind also nicht durch deren eigene Genomdifferenz 2n—n, sondern durch die der Elternpflanzen 4n—2n bedingt. Das erklärt die Übereinstimmung von $\varkappa_{\text{Pollen}}$ mit $\varkappa^3_{\text{Epidermis}}$.

Es gibt auch sonst Fälle, in denen der Pollen durch die genetische Konstitution der Elternpflanzen beeinflußt wird. Eine Nachwirkung des Elters ist für Farbmerkmale des Pollens und für einen Gestaltsunterschied bekannt (Lit. bei Renner 1929, Correns 1937). Solcher Pollen ist auch dann, wenn er von Heterozygoten stammt, weitgehend einheitlich. Es gibt andererseits eine Anzahl von Beispielen dafür, daß der Pollen von Bastarden (beziehungsweise Sporen von Moosbastarden) Haplontenspaltung zeigt, daß also das im einzelnen Pollenkorn enthaltene Genom zur Auswirkung kommt (Lit. bei Renner und Correns).

An unserem Material von *Petunia* ist es auffällig, daß die Pollengröße des Tetraplonten eine dreimal größere Streuung zeigt als die des Diplonten. Das deutet darauf hin, daß die Störungen, die in der Reduktionsteilung beim Tetraplonten vorkommen, ihren Ausdruck in der Pollengröße finden, indem Pollenkörner mit einem überzähligen Chromosom etwas größer, solche mit einem fehlenden Chromosom etwas kleiner sind als die normalen Körner. Das spricht für die Annahme, daß das eigene Genom im Pollenkorn zur Auswirkung kommt. Die erste Annahme, daß das $\varkappa_{\text{Pollen}}$ auf ein $\varkappa^2_{\text{Epidermis}}$ zurückzuführen ist, braucht dadurch nicht hinfällig zu werden. Nehmen wir an, daß das Wachstum des Pollens im wesentlichen schon in der Pollenmutterzelle beendet wird, das einzelne Pollenkorn nachher kaum weiterwächst, so müssen

die vier Pollenkörner einer Tetrade zusammen annähernd das Volumen der Pollenmutterzelle besitzen. Die Volumina der Pollenkörner müssen sich dann wie die Volumina der Pollenmutterzellen verhalten, in unserem Fall also wie $V_{2n} : V_{4n}$. Die größere Streuung beim Pollen des Tetraplonten ist dadurch zu erklären, daß die im Pollenkorn enthaltene Chromatinmenge darüber entscheidet, wieviel Plasma es von der Pollenmutterzelle mitbekommt. Die Größe einer Tetrade würde also durch das Genom der Elternpflanze bestimmt sein, die Aufteilung dieses Volumens unter die vier Tetradenabkömmlinge durch deren Chromosomengehalt. Beim Diplonten, dessen Pollenkörner alle den gleichen Chromosomengehalt haben, muß deren Variabilität verhältnismäßig gering sein, beim Tetraplonten dagegen größer, da hier die Pollenkörner verschiedene Chromosomenzahlen haben. Zur Stützung der angenommenen Erklärung sei auf Befunde von Warth (1925) an *Fuchsia* hingewiesen. Er fand, daß Pollenkörner, die ohne Reduktionsteilung aus einer Pollenmutterzelle hervorgegangen waren, das 3,6-fache Volumen solcher Pollenkörner hatten, die Abkömmlinge einer normalen Tetrade waren. Das Volumen der Pollenmutterzelle war also im einen Fall 3,6, im andern Fall 4 × 1, — vorausgesetzt, daß die Pollenkörner als solche nicht oder nur unbeträchtlich weitergewachsen waren. v. Wettsteins (1923, 1924, 1928) Ergebnisse an Moosbastarden lassen die gleiche Erklärung zu, wie sie für die Petunien vorgeschlagen wurde: im Bastard-Sporogon der Kreuzung *Funaria hygrometrica macrospora* × *F. hygr. microspora* findet eine Aufspaltung der Sporen in zwei deutlich verschiedene Größenklassen statt. Das ist so erklärbar, daß eine Spore, die das Gen für Großsporigkeit erhält, mehr Plasma von der Sporenmutterzelle mitbekommt als eine solche, die das Gen für Kleinsporigkeit enthält. So erklärt auch v. Wettstein diese Spaltung (1924). Was bei *Funaria* auf ein quantitativ wirkendes Gen zurückzuführen ist, wird bei *Petunia* durch Quantitätsunterschiede im Chromosomenbestand hervorgerufen. Ob diese Erklärung für die Petunien zutrifft, soll an den Pollenmutterzellen nachgeprüft werden. Diese müßten dann erstens einen Vergrößerungsfaktor zwischen 1,8 und 1,9 besitzen, zweitens im Tetraplonten nahezu die gleiche Streuung zeigen wie im Diplonten.

Tabelle 8

Porenzahl	2	3	4	5	6	7	Zahl der Pollenkörner
	% der Pollenkörner						
n	1,43	88,19	10,38				1050
2n		2,52	64,78	30,34	2,21	0,15	1269

Wie bei anderen polyploiden Pflanzen zeichnen sich die Pollenkörner der tetraploiden Petunien durch erhöhte Porenzahl aus (Tab. 8). Diese Erscheinung ist bei Blütenpflanzen allgemein verbreitet. (Zur Zählung der Poren wurde der Pollen mit Alkohol fixiert, in Nelkenöl beobachtet. Je 4 Pflanzen, 1 Anthere von 1 Blüte.)

5. Chloroplasten

DE VRIES beschreibt *Oenothera gigas* als dunkler grün im Vergleich mit *Oenothera Lamarckiana*, seine Abbildung (1913, Tafel III und IV) zeigt den Unterschied deutlich. Die Zahl der Beispiele für diese Erscheinung läßt sich heute beträchtlich vermehren. Für die dunklere Farbe sind vier Erklärungsmöglichkeiten vorhanden:

1. Erhöhung der Chloroplastenzahl in der Zelle.
2. Erhöhung der Zahl der chloroplastenführenden Zellschichten.
3. Größenzunahme des einzelnen Chloroplasten.
4. Stärkere Färbung des einzelnen Chloroplasten.

Den ersten Fall fand GERASSIMOFF (1902) bei *Spirogyra*, den dritten WINKLER (1916) bei *Solanum nigrum* und *S. lycopersicum* verwirklicht; den vierten konnte v. WETTSTEIN (1924) für *Bryum caespiticium* wahrscheinlich machen. Darüber, ob die zweite Möglichkeit bei irgend einer Pflanze verwirklicht ist, ist bisher nichts bekannt. Es kommt vor, daß verschiedene dieser Möglichkeiten bei einem Objekt vereinigt sind (*Solanum*, WINKLER), oder aber, daß die Chloroplasten auf die Genomerhöhung gar nicht reagieren, wie SCHWANITZ (1932) für *Physcomitrium piriforme* zeigte.

Die Chloroplastenzahl wurde selten bestimmt. Nach GERASSIMOFF hat sich erst WINKLER mit dem Verhalten der Plastiden bei Polyploiden beschäftigt. Er gibt keine Zahlen an, schreibt aber, „daß die Mesophyllzellen (beim Tetraplonten) größer sind und mehr Chlorophyllkörner enthalten". v. WETTSTEIN (1924) führte genaue Zählungen an Laubmoosen durch und konnte eine starke Erhöhung der Chloroplastenzahl mit steigender Genomzahl feststellen, UFER (1927) fand dasselbe bei *Cleome spinosa* und *Cl. gigantea*. Daß man sich auch in diesem Fall vor Verallgemeinerungen hüten muß, beweist die Untersuchung von SCHWANITZ, die ergab, daß bei *Funaria hygrometrica* die Chloroplastenzahl mit steigendem Genom erhöht wird, während sie bei *Physcomitrium piriforme* gleich bleibt.

Öfters als die Zahl wurde die Größe der Plastiden untersucht. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 9 zusammengestellt. Die Verschiedenheit der Ergebnisse von STOMPS und VAN OVEREEM ist nicht geklärt. Die Zusammenstellung zeigt, daß Polyploidie nicht notwendig von Vergrößerung der Chloroplasten gefolgt ist.

Während die Moos-Sippen sich verschieden verhalten, zeigen alle untersuchten Blütenpflanzen Chloroplastenvergrößerung infolge der Genomvermehrung. Unsere Petuniensippe zeigt in der Grünfärbung der Laubblätter keinen Unterschied zwischen Diplonten und Tetraplonten. Die Farbintensität schwankt bei beiden Formen etwas. Die Chloroplastenzahl wurde nicht bestimmt. Die Chloroplastengrößen sind gleich (Tab. 10).

Die Übereinstimmung der Mittelwerte ist so gut, daß trotz der großen Fehler, die solchen Messungen anhaften, nicht an der Gleichheit der Werte zu zweifeln ist. (Von je 10 Pflanzen 2n und 4n wurde das Blattpaar unterhalb der ersten Blüte zur Messung verwendet. An Schnitten durch die Blattmitte wurden

Tabelle 9

Chloroplastengrößen (+ = Vergrößerung, 0 = keine Vergrößerung)

Autor und Jahr	Objekt	Verhalten
Gerassimoff 1902	*Spirogyra*	0
Winkler 1916	*Solanum nigrum*	+
	Solanum lycopersicum	+
Stomps 1919	*Oenothera Lamarckiana gigas*	0
van Overeem 1922	„ „ „	+
v. Wettstein 1924	*Bryum caespiticium*	0
	Amblystegium serpens	0
	Funaria hygrometrica	0
	Physcomitrella patens	0
Schweizer 1923	*Splachnum sphaericum*	0
Schratz 1924	*Physcomitrium eurystomum*	+
	Mnium hornum	+
	Mnium rostratum	+
Ufer 1927	*Cleome spinosa*	+
	Cleome gigantea	+
Schwanitz 1932	*Physcomitrium piriforme*	0
	Funaria hygrometrica	0
	Lycopersicum spec.	+

Tabelle 10

	Chloroplastenfläche (cm^2 der Zeichnung) $M \pm 3m$	Streuung	Zahl der Chloroplasten
2n	$2{,}13 \pm 0{,}7$	$\pm 5{,}42$	500
4n	$2{,}21 \pm 0{,}8$	$\pm 6{,}35$	500

die Plastiden aus der zweiten (= inneren) Palisadenschicht herausgezeichnet. $^1/_{12}$ Imm. Leitz, Ap. 1,30; Ok. K 12 (15×) Zeiss; Abbescher Zeichenapparat. Die Zeichnungen wurden planimetriert. Eine Volumenmessung der Chloroplasten ist wegen ihrer linsenförmigen Gestalt nicht möglich.)

Das Fehlen von Größenunterschieden an den Plastiden, von Farbunterschieden sowohl am ganzen Blatt wie am Einzelchloroplasten, ließ immer noch die Möglichkeit offen, daß die Plastiden in ihrer Feinstruktur durch die Genomerhöhung im Tetraplonten beeinflußt würden. Daran war um so eher zu denken, als Heitz (1937) gesetzmäßige Unterschiede der Granagröße in verschiedenen Gewebsschichten von Blättern feststellen konnte, derart, daß die Grana in den innen gelegenen Zellen (Mesophyll) größer waren als in den außen gelegenen (Epidermis). Die Grana-Größe ist also der Beeinflussung durch Außenbedingungen zugänglich, und als eine solche könnte das Genom sich auswirken. — In enger

Anlehnung an Heitzs Angaben wurden die Grana von je 5 diploiden und tetraploiden Pflanzen an entsprechenden Zellen untersucht, wie sie vorher für die Chloroplastenmessungen verwendet wurden (Blattpaar unterhalb der ersten Blüte. Querschn. durch die Blattmitte in 4 % Rohrzuckerlösung. Zweite Palisadenschicht. Imm. 120×, Ok. K 12, Blaufilter aus Berliner Blau nach Pringsheim. Abbescher Zeichenapparat). Die Grana sind bei der untersuchten Petuniensippe außerordentlich klein, ihr Durchmesser schwankt zwischen 0,20 und 0,30 μ. Bei der starken Vergrößerung, die angewendet werden mußte (mit Zeichenapparat 3170×), sind alle Messungen naturgemäß mit großen Fehlern behaftet und sehr vorsichtig zu werten. Größenmessungen von Einzelgrana und statistische Auswertung solcher Zahlen wäre ohne Sinn. Es kommt nur ein Vergleich der Zeichnungen in Betracht. Von jedem Blatt wurden wenigstens 70 Grana gezeichnet, von jeder Pflanze also 140, von Diplont und Tetraplont etwa 700. Beim Vergleich dieser Zeichnungen ist ein Unterschied zwischen Diplonten und Tetraplonten nicht feststellbar, ebenso, wie sich auch keine Größenunterschiede innerhalb des einzelnen Blattes feststellen ließen.

C. Physiologische Untersuchungen

1. Entwicklungsgeschwindigkeit

Die Keimungsgeschwindigkeit ist bei den Tetraplonten den Diplonten gegenüber etwas erhöht. Bei den Aussaaten im Jahre 1937 ließ sich ein Unterschied von $^1/_2$ Tag beobachten, bei einer Aussaat im März 1938 waren die Tetraplonten den Diplonten sogar um 2 Tage voraus. Jørgensen (1928) und Schlösser (1937) berichten von einem Keimverzug bei tetraploiden Tomaten, während Heilbronn (1932) bei den Sporen tetraploider Farne ein Vorauseilen in der Keimung feststellte. Die weitere Entwicklung verläuft bei den Petunien so, daß die 4n-Pflanzen anfangs voraus sind und wegen der größeren Blätter einen kräftigeren Eindruck machen. Je mehr die Sproßachsen sich strecken, verwischt sich dieser Unterschied, und sobald die Verzweigung der Diplonten einsetzt (s. S. 4—6), kehrt er sich um; die Diplonten sind nun gegenüber den Tetraplonten im Vorteil. Als Maß für die Entwicklungsgeschwindigkeit wird bei Blütenpflanzen meist die Entwicklungszeit von der Keimung bis zum Aufblühen der ersten Blüte genommen. Als genauer Zeitpunkt wurde der Tag gewählt, an dem 50 % der Pflanzen aufgeblüht waren (Tab. 11). Die Verzögerung des Blüteeintritts beträgt bei den Tetraplonten 3—5 Tage.

Tabelle 11

	2n	4n	Differenz
Serie 2, Aussaat 28. 6.			
50 % blühen am	23. 8.	28. 8.	5 Tage
Gesamtzahl der Pflanzen	25	25	
Serie 3, Aussaat 10. 7.			
50 % blühen am	7. 9.	10. 9.	3 Tage
Gesamtzahl der Pflanzen	49	66	

2. Stoffliche Leistung

Die Befunde von Fabergé (1936), der bei verschiedenen Tomatensippen keine erhöhte stoffliche Leistung der 4n-Pflanzen fand, andererseits diejenigen Schlössers (1937), der für andere Wild- und Kultursippen von Tomaten starke Zunahme des stofflichen Ertrages bei den Tetraplonten feststellte, ließen eine Prüfung dieser Frage an unserem Material wünschenswert erscheinen. Die Versuchsanordnung war im ganzen der von Fabergé ähnlich, zeigte im einzelnen aber einige Abweichungen.

Die Pflanzen wurden in Pikierkisten (27,5 × 57,5 cm) im Gewächshaus kultiviert, 10 Reihen zu 5 Pflanzen in jeder Kiste; von 2n und 4n je 8 Kisten, also 400 Pflanzen von jeder der beiden Rassen. Zur Frischgewichtsbestimmung wurden die Pflanzen in vorher bestimmter Reihenfolge aus den Kisten genommen, um ungefähr gleiche Abstände für die verbleibenden zu erhalten und um eine

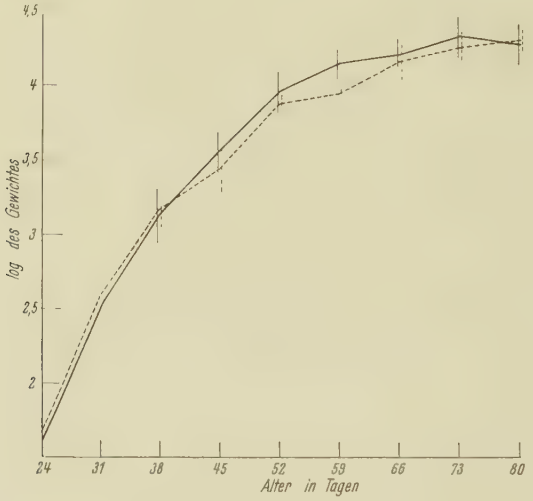

Fig. 5. Wachstumskurve der 2n- und 4n-Petunien. —— 2n, ------ 4n. Die senkrechten Linien geben die dreifachen mittleren Fehler an.

das Ergebnis fälschende Selektion zu vermeiden. Bei der Ernte wurden die Wurzeln in Kotyledonenhöhe weggeschnitten, die Sprosse, von Erdresten befreit, in tarierte Wägegläschen getan. Es wurde immer vormittags geerntet, an Erntetagen wurden die Pflanzen vorher nicht gegossen. Nach Bestimmung des Frischgewichtes wurden die Sprosse im elektrischen Trockenschrank bei erhöhter Temperatur (120° C—130° C) etwa eine Stunde lang abgetötet, danach 19 weitere Stunden bei 100° C getrocknet, im Exsikkator abkühlen gelassen und das Trockengewicht bestimmt. Diese Trocknungszeit erwies sich in allen Fällen als genügend, um Gewichtskonstanz zu erreichen. Gewogen wurde auf 1 mg genau. Es wurden jedesmal gleichzeitig 20 Pflanzen 2n und 4n geerntet. Bei den beiden ersten Ernten mußte die Zahl wegen der geringen Gewichte der Pflänzchen

größer genommen werden. Die erste Ernte bestand aus je 143 Pflanzen, immer 18 (bzw. 17) in einem Wägeglas, die zweite Ernte aus je 40 Pflanzen, 4 in jedem Wägeglas. Bei diesen beiden Ernten konnte daher eine fehlerstatistische Auswertung nicht vorgenommen werden. Die Aussaat erfolgte am 13. August, die Keimlinge wurden am 31. August pikiert. Beim Pikieren wurde jegliche Auslese nach Möglichkeit vermieden, große und kleine Pflänzchen ohne Unterschied verwertet. Die erste Ernte fand am 6. September statt, die weiteren in Abständen von einer Woche bis zum 1. November. Von der 7. Ernte an (66 Tage alt) blühte eine ganze Anzahl 2n-Pflanzen. 4n-Pflanzen hatten mehrere Knospen, die aber in der Entwicklung stecken blieben. Es hatte den Anschein, als reagierten die 4n-Pflanzen empfindlicher auf die geringere Lichtintensität oder die kürzeren Tage im Oktober. „Blühreif" waren sie jedenfalls auch. Das Ergebnis des Versuches zeigt Tab. 12 und Fig. 5.

Tabelle 12

Ernte Nr.	Alter i. Tg.	Frischgewicht in g M ± 3m		Trockengewicht in g M ± 3m	
		2n	4n	2n	4n
1	24	0,041	0,050	0,002	0,003
2	31	0,321	0,385	0,019	0,021
3	38	1,380 ± 0,525	1,440 ± 0,312	0,077 ± 0,027	0,074 ± 0,016
4	45	3,675 ± 1,095	2,700 ± 0,912	0,215 ± 0,064	0,160 ± 0,055
5	52	9,250 ± 2,910	7,400 ± 1,239	0,517 ± 0,179	0,352 ± 0,069
6	59	14,050 ± 3,072	8,700 ± 2,211	0,885 ± 0,231	0,505 ± 0,137
7	66	16,000 ± 3,840	14,300 ± 3,759	1,180 ± 0,318	0,835 ± 0,218
8	73	21,400 ± 6,540	17,900 ± 3,534	2,000 ± 0,565	1,385 ± 0,296
9	80	19,300 ± 5,622	19,900 ± 3,078	1,950 ± 0,624	1,595 ± 0,279

Ein gesicherter Unterschied ist nur bei Ernte 6, im Alter von 59 Tagen feststellbar. Hier sind die Tetraplonten wesentlich leichter als die Diplonten (Diff. = 5,350 m_{Diff} = 1,26). In allen anderen Fällen überschneiden sich die dreifachen mittleren Fehler der Mittelwerte. Doch scheint es möglich, aus dem Verlauf der Zuwachskurve Tendenzen herauszulesen, die sich an größerem Material und bei etwas anderer Versuchsanordnung (besonders Vermeidung des Pikierens, das die Streuung vermutlich sehr erhöht) vielleicht als gesicherte Unterschiede erweisen würden. Die anfangs bestehende geringe Förderung der Tetraplonten läßt sich durch das größere Samengewicht und damit wahrscheinlich größere Embryogewicht zwanglos erklären. (500 Samen wiegen: 2n 39,4 mg, 4n 62,2 mg; 2n : 4n = 1 : 1,58). Vielleicht ermöglicht auch die größere Keimblattfläche eine stärkere Assimilation bei den tetraploiden Keimlingen. Bis zum Alter von 40 Tagen etwa sind die 4n-Pflanzen noch im Vorteil. Dann werden sie von den sich schneller entwickelnden 2n-Pflanzen überholt. Diese verzweigen sich, während die Tetraplonten bei gleicher Höhe noch unverzweigt bleiben und immer mehr in Nachteil geraten. Nach 60 Tagen beginnen die Tetraplonten aufzuholen und schließlich erreichen sie das Gewicht der Diplonten wieder.

Es ist denkbar, daß dieser Wachstumsversuch anders verlaufen wäre, wenn er zu günstigerer Jahreszeit stattgefunden hätte. Das läßt sich aber mit Sicherheit sagen, daß unter nicht allzu extremen Kulturbedingungen die Tetraplonten sich in ihrer stofflichen Leistung von den Diplonten nicht sehr stark unterscheiden. Frischgewichtszunahmen, wie sie Schlösser bei Tomaten findet (2n : 4n = 1 : 2,57!) sind bei unseren Pflanzen ausgeschlossen. Die große Ähnlichkeit unserer Zuwachskurve mit derjenigen, die Fabergé für Tomaten gibt (1936, S. 371), ist erstaunlich.

3. Wassergehalt und osmotischer Wert

Seit Becker (1931) bei Laubmoosen mit steigender Genomzahl absinkende osmotische Werte feststellen konnte, haben die Verhältnisse der osmotischen Werte und der Wassergehalte bei Polyploiden verschiedentlich Beachtung gefunden. Kostoff und Axamitnaja (1935a und b) fanden höheren Wassergehalt bei 4n-*Solanum lycopersicum* „Mikado" und bei amphidiploiden *Nicotiana*-Sippen im Vergleich mit ihren diploiden F_1-Bastarden. Es läßt sich aus ihren Untersuchungen nicht erkennen, ob diese Unterschiede gesichert sind. Fabergé (1936) fand keine wesentlichen Unterschiede im Wassergehalt verschiedener Tomatensippen und der dazugehörigen Tetraplonten. Immerhin zeigten die Tetraplonten eine geringe Erhöhung des Wassergehaltes. Schlösser (1936a und b, 1937) konnte sowohl bei Wild- und Kulturrassen von Tomaten als auch bei Winterrübsen Unterschiede im osmotischen Wert und im Wassergehalt nachweisen, die in allen Fällen sehr beträchtlich waren.

Unser Material zeigte bei feuchter Kultur keine wesentlichen Unterschiede im Wassergehalt zwischen Diplonten und Tetraplonten. Wurden die Pflanzen trocken kultiviert, so sank der Wassergehalt beider Formen ab, der der Tetraplonten aber etwas weniger, so daß sich eine kleine aber deutliche Differenz zeigte (Tab. 13).

Tabelle 13

	2n	4n
Feucht (Serie 1)		
Wassergehalt in % des Frischgewichtes. M ± 3m	93,3 ± 0,5	94,0 ± 0,5
Zahl der Pflanzen	24	24
Trocken (Serie 2)		
Wassergehalt in % des Frischgewichtes. M ± 3m	90,8 ± 0,6	92,2 ± 0,6
Zahl der Pflanzen	23	24

Schließlich erlaubt unser Wachstumsversuch Aussagen über den Wassergehalt und sein Verhalten im Laufe der Entwicklung (Fig. 6). Der Wassergehalt war bei den Tetraplonten immer größer als bei den Diplonten, bei 59 Tage alten Pflanzen war der Unterschied durch die dreifachen mittleren Fehler der Mittelwerte gesichert und nahm bis zum Abbruch des Versuchs weiter zu, so daß die

Wassergehaltsdifferenz (in % der Frischgewichte) bei 80 Tage alten Pflanzen 1,9 % betrug.

Physiologische Bedeutung kommt den Unterschieden im Wassergehalt hauptsächlich dann zu, wenn ihnen Unterschiede in den osmotischen Werten entsprechen. Es wurden deshalb an einer Anzahl von Pflanzen die osmotischen Werte kryoskopisch bestimmt (Walter 1931). Die Pflanzen waren 88 Tage alt (10. 7. 1937—6. 10. 1937) und ziemlich trocken kultiviert worden. Es ist anzunehmen, daß unter diesen Umständen die Unterschiede im Wassergehalt

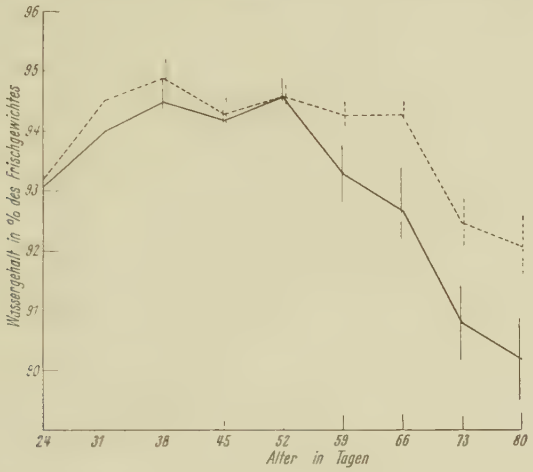

Fig. 6. Wassergehalt der 2n- und 4n-Petunien. —— 2n, ------ 4n. Die senkrechten Linien geben die dreifachen mittleren Fehler an.

ziemlich groß waren, jedenfalls nicht geringer, als sie früher für 80 Tage alte Pflanzen gefunden wurden. Die osmotischen Werte unterschieden sich nur so, daß die Mittelwerte eben durch die dreifachen mittleren Fehler getrennt sind (Tab. 14).

Tabelle 14
Osmotische Werte 88 Tage alter Pflanzen in atm.

	M ± 3m	Streuung	Zahl der Pflanzen
2n	8,9 ± 0,4	± 3,73	30
4n	8,2 ± 0,3	± 3,40	45

D. Schluß

1. Besprechung der Ergebnisse

Neben manchen Ähnlichkeiten, die die Petunien mit anderen experimentell erzeugten polyploiden Sippen gemeinsam haben, weichen sie in manchem stark von dem ab, was bisher über Tetraploidie bekannt ist. Erstaunlich ist in erster

Linie die hohe Fertilität des Tetraplonten, besonders im Hinblick darauf, daß es sich um eine homozygote autopolyploide Sippe handelt. Bei deszendenztheoretischen Betrachtungen hat die verminderte Fertilität autopolyploider Sippen immer eine große Rolle gespielt und man hat den Allopolyploiden auf Grund ihrer meist größeren Fruchtbarkeit eine höhere Bedeutung für die Entstehung neuer Arten zugeschrieben, sicher mit Recht. Der Petunien-Fall zeigt, daß auch eine rein autopolyploide Sippe, ohne jegliche Änderung in ihrem Genbestand, von vorneherein normale Fertilität besitzen kann.

Unbekannt sind bisher derartig starke Wuchsunterschiede, wie es die Verzweigungsverhältnisse bei unseren Diplonten und Tetraplonten sind. Es liegt nahe, dabei an Unterschiede im Auxinstoffwechsel zu denken. Da darüber, ob solche vorliegen, keine Versuche unternommen wurden, soll von einer Erörterung der Erklärungsmöglichkeiten abgesehen werden.

Aus den bisher bekannten Untersuchungen und unseren Ergebnissen geht hervor, daß es nur für wenige Eigenschaften möglich ist, allgemeingültige Gesetzmäßigkeiten über die Wirkung der Polyploidie zu formulieren. Möglich scheint es für die Vergrößerung der Zellvolumina zu sein. Als einzige Ausnahme von dieser Regel galt bisher *Anthoceros laevis*, für das unabhängig voneinander Bornhagen (1926) und Schwarzenbach (1926) ein $z = 0{,}5$ fanden, d. h. die Zellen des diploiden Regenerates waren kleiner als die des haploiden Thallus. Das Regenerat bildet keinen normalen Thallus, sondern nur unregelmäßige Zellhaufen. Der Sporophytencharakter scheint beim *Anthoceros*-Diplonten so streng determiniert zu sein, daß das diploide Gewebe nicht imstande ist, in Gestalt des Gametophyten zu regenerieren. Da es aber nur zulässig ist, Volumvergleiche zwischen morphologisch gleichartigen Geweben anzustellen, kommt dem Verkleinerungsfaktor 0,5 bei *Anthoceros* keine Bedeutung zu für die allgemeine Frage der Zellvolumsänderung infolge von Polyploidie. (Die Bedeutung der *Anthoceros*-Versuche für das Determinationsproblem bleibt dadurch unberührt.) Das Gesetz der Zellvergrößerung als Folge der Genomvermehrung besteht also vorläufig zu Recht.

Ob auch die von Becker (1931) gefundene Gesetzmäßigkeit der Erniedrigung des osmotischen Wertes mit steigender Genomzahl wirklich für alle Pflanzen gilt, läßt sich jetzt noch nicht absehen. In den Fällen, in denen bisher der Wassergehalt oder der osmotische Wert geprüft wurde, fand sich immer ein niedrigerer osmotischer Wert (bzw. höherer Wassergehalt) beim Tetraplonten. Bei einigen Pflanzen (Kostoff und Axamitnaja 1935a und b, Fabergé 1936) waren die Unterschiede sehr gering oder nur angedeutet, bei anderen (Becker 1931, Schlösser 1936, 1937) außerordentlich hoch. Die untersuchte *Petunia* nimmt eine Mittelstellung ein. Daß direkte Beziehungen zwischen osmotischem Wert und Zellgröße nicht bestehen, wies bereits Becker nach.

Für die Plastidengröße, die bei allen bisher untersuchten Blütenpflanzen im Tetraplonten gesteigert war (den Widerspruch bei *Oenothera gigas* vgl. Tab. 9), konnte gezeigt werden, daß sie bei den Petunien gleich bleibt; die Verhältnisse sind bei den Blütenpflanzen ähnlich wie bei den Moosen, wo die Reaktion der Plastiden auf die Genomerhöhung bei den einzelnen Arten sehr verschieden ist.

Besondere Beachtung verdient die Variabilität für die Eigenschaften des Tetraplonten. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß in allen Fällen, in denen Sämlingspflanzen zur Untersuchung verwendet wurden, außer genau tetraploiden Pflanzen auch solche mit 4n—1 (= 27) und 4n + 1 (= 29) Chromosomen untersucht wurden. Nach Zählungen von Herrn Dr. R. Griesinger hatten von 14 geprüften Pflanzen

7	28	Chromosomen
4	27	„
3	29	„

Aus der geringen Zahl läßt sich nicht auf das tatsächliche Verhältnis der Tetraplonten zu den Abweichern schließen. Es geht aber daraus hervor, daß Hypo- und Hypertetraploide einen wesentlichen Teil der Nachkommenschaft ausausmachen. Trotzdem zeigte sich bei verschiedenen Eigenschaften, besonders deutlich wird es beim Vergleich der Zuwachskurven (Fig. 5) und Wassergehaltskurven (Fig. 6), daß die Streuung der Tetraplonten geringer war. Eine Abnahme der Streuung für Eigenschaften des Tetraplonten fanden bereits Lindstrom (1935) und Fabergé (1936) an für statistische Auswertung günstigeren Material. Daß sie, trotz teilweise abweichender Chromosomenzahlen, auch an unseren Pflanzen zur Geltung kommt, läßt vermuten, daß ein einzelnes Chromosom, das zum vierfachen Genom hinzukommt oder an ihm fehlt, seine Wirkung nicht oder kaum entfaltet. Ob die Variabilitäts-Verminderung für alle Eigenschaften eines tetraploiden Organismus eintritt, läßt sich noch nicht absehen. Gerade bei den Epidermiszellen, für deren Messung genau tetraploide Pflanzen verwendet wurden, zeigt der Tetraplont etwas größere Streuung (S. 10). Doch ist einerseits das Material (je 5 Pflanzen) zu gering, um daraus gültige Schlüsse zu ziehen, andererseits sind die im Anfang (S. 3) betonten Mängel der Stecklingspflanzen zu berücksichtigen, die für eine größere Streuung verantwortlich gemacht werden könnten.

Auf der Suche nach einer Erklärung für die niedrigere Streuung tetraploider Pflanzen wird man am ehesten Fabergé zustimmen (1936, S. 397): „Genes determine the form and size of an organism. During their action circumstances may arise under which two genes fail to have full effect, but four are sufficient for a complete or more complete action;" unter Anwendung der Terminologie von Timoféeff-Ressovsky (1934) „. . . one might say that either or both the Penetranz and the Expressivität of quantitative genes is increased by an increase in their absolute number."

2. Zusammenfassung

Diplont und Tetraplont einer homozygoten Gartensippe von *Petunia axillaris* wurden vergleichend untersucht.

Die Pflanzen unterscheiden sich wenig in der Sproßhöhe, stark in den Verzweigungsverhältnissen. Der Diplont verzweigt sich wesentlich früher als der Tetraplont.

Die Laubblätter sind, wie alle Organe, beim Tetraplonten dicker. Sie sind relativ breiter als beim Diplonten, ihre Oberfläche ist schwach gewellt.

Die Blüten sind in ihrer Größe wenig verschieden. Der Blütenschlund ist beim Tetraplonten dunkler gefärbt.

Alle Zellen sind beim Tetraplonten stark vergrößert, die Epidermiszellen um das 1,88-fache, der Pollen um das 1,8-fache. Der Triplont steht in der Mitte zwischen Diplonten und Tetraplonten. Die Chloroplasten beider Formen sind gleich groß, ebenso die Chloroplastengrana.

In der Keimung sind die Tetraplonten den Diplonten etwas voraus, ihre Entwicklungsgeschwindigkeit ist etwas geringer.

Die Frischgewichte der Sprosse sind während eines großen Teiles der Entwicklung beim Diplonten und Tetraplonten fast gleich, nur während einer kurzen Zeit sind die Tetraplonten leichter.

Der Wassergehalt ist bei den Tetraplonten etwas erhöht, der osmotische Wert gerade soweit erniedrigt, daß der Unterschied gesichert ist.

Die Streuung ist beim Tetraplonten in mehreren Fällen niedriger als beim Diplonten.

Schriftenverzeichnis

Becker, G., 1931. Experimentelle Analyse der Genom- und Plasmonwirkung bei Moosen. III. Osmotischer Wert heteroploider Pflanzen. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgsl. **60**, 17—38.

Bornhagen, H., 1926. Die Regeneration (Aposporie) des Sporophyten von *Anthoceros laevis*. Biol. Zbl. **46**, 578—586.

Fabergé, A. C., 1936a. The physiological consequences of polyploidy. I. Growth and size in the tomato. Journ. Genetics **33**, 365—382.

— 1936b. The physiological consequences of polyploidy. II. The effect of polyploidy on the variability in the tomato. Journ. Genetics **33**, 383—400.

Ferguson, M. C. u. A. M. Ottley, 1932. Studies on *Petunia* III. A redescription and additional discussion of certain species of *Petunia*. Am. Journ. of Bot. **19**, 385—405.

Gates, R. R., 1909. The stature and chromosomes of *Oenothera gigas*, de Vries. Arch. Zellf. **3**, 525—552.

Gerassimoff, J., 1902. Die Abhängigkeit der Größe der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. Zeitschr. allg. Physiol. **1**, 220.

Heilbronn, A., 1928. Über experimentell erzeugte Tetraploidie bei Farnen. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgsl., Suppl. 2, 830—844.

Heitz, E., 1937. Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. Planta **26**, 134—163.

Jørgensen, C. A., 1928. The experimental formation of heteroploid plants in the genus *Solanum*. Journ. Genetics **19**, 133—211.

Kostoff, D., 1930. Eine tetraploide Petunie. Zeitschr. Zellf. u. mikr. Anat. **10**, 783—786.

— u. J. Kendall, 1931. Studies on certain *Petunia* aberrants. Journ. Genetics **24**, 165—178.

— u. J. Axamitnaja, 1935a. Studies on polyploid plants. VII. Chemical analysis of F_1-hybrids and their amphidiploids. C. R. Ac. Sc. URSS. I, v.I, 328—329.

— — 1935b. Studies on polyploid plants IX. Chemical analysis of diploid and their autotetraploid plants. C. R. Ac. Sc. URSS. I., v. II, 293—297.

Lindstrom, E. W., 1935. Segregation of quantitative genes in tetraploid tomato hybrids as evidence for dominance relations of size characters. Genetics **20**, 1—11.

Müntzing, A., 1935/36. The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas **21**, 263—378.

Redinger, K., 1938. Über die Entstehung diploider Embryonen aus unbefruchteten, mit gattungsfremdem Pollen bestäubten Samenanlagen von *Petunia nyctaginiflora*. Biol. Zbl. **58**, 142—151.

Schlösser, L. A., 1936a. Frosthärte und Polyploidie. Züchter **8**, S. 75—80.

— 1936b. Befruchtungsschwierigkeiten bei Autopolyploiden und ihre Überwindung. Züchter **8**, 295—301.

— 1937. Grenzen und Möglichkeiten der Ausnutzung von Polyploidie in der Pflanzenzucht. Forschungsdienst **3**, 69—82.

Schwanitz, F., 1932. Experimentelle Analyse der Genom- und Plasmonwirkung bei Moosen. V. Protonemaregeneration aus Blättchen, Chloroplastengröße, Chloroplastenzahl, assimilatorische Relation. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgsl. **62**, 232—248.

Schratz, E., 1924. Vergleichende Untersuchungen an uni- und bivalenten Laubmoosen. Biol. Zbl. **44**, 593—623.

Schwarzenbach, M., 1926. Regeneration und Aposporie bei *Anthoceros*. Arch. J. Klaus-Stiftg. **2**, 91—141.

Schweizer, J., 1923. Polyploidie und Geschlechterverteilung bei *Splachnum sphaericum* (Linn. Fil.) Swartz. Flora N. F. **16**, 1—72.

Stomps, Th. J., 1919. Gigas-Mutation mit und ohne Verdoppelung der Chromosomenzahl. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbgsl. **21**, 65—90.

Timoféeff-Ressovsky, N. W., 1934. Über den Einfluß des genotypischen Milieus auf die Realisation des Genotyps. Genmutation v. t. i. bei *Drosophila funebris*. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Phys.-math. Kl., **6**, 53—106.

Ufer, M., 1927. Vergleichende Untersuchungen über *Cleome spinosa*, *Cleome gigantea* und ihre Gigas-Formen. Diss. Hamburg.

de Vries, H., 1913. Gruppenweise Artbildung unter spezieller Berücksichtigung der Gattung *Oenothera*. Berlin.

Walter, H., 1931. Die kryoskopische Bestimmung des osmotischen Wertes bei Pflanzen. Handb. biol. Arbeitsmeth., Abt. XI, T. 4, 353—371.

Warth, G., 1925. Zytologische, histologische und stammesgeschichtliche Fragen aus der Gattung *Fuchsia*. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgsl. **38**, 200—257.

v. Wettstein, F., 1923. Kreuzungsversuche mit multiploiden Moosrassen. Biol. Zbl. **43**, 71—83.

— 1924. Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. Zeitschr. f. ind. Abst.- u. Vererbgsl. **33**, 1—236.

— 1927. Die Erscheinung der Heteroploidie, besonders im Pflanzenreich. Ergebn. Biol. **2**, 311—356.

— 1928. Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. II. Bibliotheca Genetica **10**.

Winkler, H., 1916. Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. Z. Bot. **8**, 417—531.

Herrn Professor F. v. Wettstein danke ich für die Überlassung des Themas und des Materials zu dieser Arbeit. Er gab mir Gelegenheit zu weitgehend selbständiger Arbeit und sorgte durch mannigfaltige Anregungen für meine wissenschaftliche Fortbildung.

Lebenslauf

Ich, Karl Rudolf Hesse, wurde am 7. Februar 1913 als Sohn des damaligen Professors an der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin Dr. Richard Hesse und seiner Ehefrau Thekla geb. Pfleiderer zu Frohnau (Mark) geboren. Nach Besuch einer dreiklassigen Vorschule in Bonn war ich Schüler des dortigen städtischen Realgymnasiums, von Obertertia an des Reform-Realgymnasiums zu Berlin-Grunewald. Ostern 1931 bestand ich dort die Reifeprüfung. Danach studierte ich in Berlin und München Biologie. Meine Doktor-Arbeit machte ich unter Leitung von Herrn Professor F. v. Wettstein am Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem. Sie wurde im Frühjahr 1938 abgeschlossen.